

(19)日本国特許庁 (J P)

(12) 公開特許公報 (A)

(11)特許出願公開番号

特開平5-117385

(43)公開日 平成5年(1993)5月14日

(51)Int.Cl. <sup>5</sup>	識別記号	庁内整理番号	F I	技術表示箇所
C 0 8 G 65/32	N Q J	9167-4 J		
A 6 1 K 31/71	A D U	8314-4 C		
31/785		8314-4 C		
47/48	A	7329-4 C		
C 0 7 C 237/22		7106-4 H		

審査請求 未請求 請求項の数11(全 10 頁) 最終頁に続く

(21)出願番号 特願平3-313807

(22)出願日 平成3年(1991)10月31日

(71)出願人 390014535

新技術事業団

東京都千代田区永田町2丁目5番2号

(71)出願人 591265312

桜井 靖久

東京都杉並区永福3-17-6

(71)出願人 000004086

日本化薬株式会社

東京都千代田区富士見1丁目11番2号

(72)発明者 横山 昌幸

千葉県松戸市新松戸3-170、MBSハイ  
ツB-201

(74)代理人 弁理士 川口 義雄 (外3名)

最終頁に続く

(54)【発明の名称】 ブロック共重合体の製造法、ブロック共重合体及び水溶性高分子抗癌剤

(57)【要約】

【目的】 親水性高分子構造部分と、光学活性なポリ- $\alpha$ -アミノ酸構造部分とを有するブロック共重合体及びこれを用いた水溶性高分子抗癌剤を提供すること。

【構成】 親水性高分子構造部分と光学活性なポリ- $\alpha$ -アミノ酸構造部分とを有するブロック共重合体を得る際に、保護基の除去を酸を用いて行う。これにより、構造的に均一なブロック共重合体を得られ、これは、抗癌剤を結合させると水溶性高分子抗癌剤を与える。

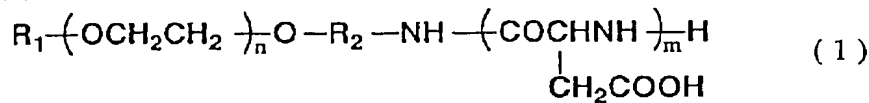
BEST AVAILABLE COPY

【特許請求の範囲】

【請求項1】 親水性高分子構造部分と、カルボキシル基が保護基で保護されている光学活性なポリ- $\alpha$ -アミノ酸構造部分とを有するブロック共重合体から、保護基を酸を用いて除去することを特徴とする、親水性高分子構造部分と、光学活性なポリ- $\alpha$ -アミノ酸構造部分とを有するブロック共重合体の製造法。

【請求項2】 親水性高分子構造部分がポリエチレングリコール構造を有する、請求項1記載のブロック共重合体の製造法。

【請求項3】 ポリ- $\alpha$ -アミノ酸がポリ- $\alpha$ -アスパ



(式中、 $R_1$  は低級アルキル基を表し、 $R_2$  は結合基を表し、 $n$  は5~1,000、 $m$  は1~300の整数を示す。)

【請求項7】  $R_1$  がメチル基である請求項6記載のブロック共重合体。

【請求項8】  $R_2$  が炭素数2~4のアルキレン基である請求項6又は7記載のブロック共重合体。

【請求項9】 請求項5、6、7又は8のブロック共重合体のポリ- $\alpha$ -アスパラギン酸構造部分の側鎖に抗癌性物質を結合せしめた水溶性高分子抗癌剤。

【請求項10】 抗癌性物質がアドリアマイシンである請求項9の水溶性高分子抗癌剤。

【請求項11】 抗癌性物質を結合せしめた光学活性なポリ- $\alpha$ -アスパラギン酸構造部分を内側に、親水性高分子構造部分を外側とするミセルを形成するものである請求項9又は10に記載の水溶性高分子抗癌剤。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【産業上の利用分野】 本発明は、ブロック共重合体の製造法、ブロック共重合体及び水溶性高分子抗癌剤に関する。

【0002】

【従来の技術】 親水性高分子構造部分とポリ- $\alpha$ -アミノ酸構造部分を有するブロック共重合体及びこれに抗癌性物質を結合せしめた水溶性高分子抗癌剤は、特開平2-300133号公報に記載されている。

【0003】

【発明が解決しようとする課題】 特開平2-30013

\* ラギン酸又はポリ- $\alpha$ -グルタミン酸である、請求項1又は2記載のブロック共重合体の製造法。

【請求項4】 エステル構造の形でカルボキシル基が保護基で保護されている、請求項1、2又は3記載のブロック共重合体の製造法。

【請求項5】 親水性高分子構造部分と、光学活性なポリ- $\alpha$ -アスパラギン酸構造部分とを有するブロック共重合体。

【請求項6】 式(1)で表される請求項5記載のブロック共重合体。

【化1】

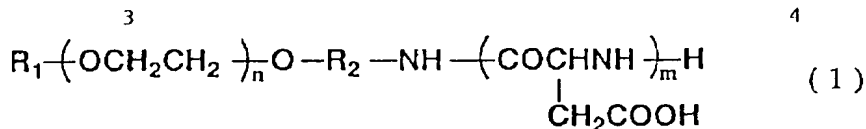
3号公報の実施例に記載された方法により得られるポリエチレングリコール-ポリアスパラギン酸ブロック共重合体を用いて得られる水溶性高分子抗癌剤は、優れた抗癌活性を示すが、より一層の抗癌活性の向上が望まれる。

【0004】

【課題を解決するための手段】 本発明者らは、前記水溶性高分子抗癌剤の抗癌活性を改良するためにその製造法及び構造について鋭意検討した結果本発明を完成した。即ち、本発明は、(1) 親水性高分子構造部分と、カルボキシル基が保護基で保護されている光学活性なポリ- $\alpha$ -アミノ酸構造部分とを有するブロック共重合体から、保護基を酸を用いて除去することを特徴とする、親水性高分子構造部分と、光学活性なポリ- $\alpha$ -アミノ酸構造部分とを有するブロック共重合体の製造法、(2) 親水性高分子構造部分がポリエチレングリコール構造を有する、上記(1)記載のブロック共重合体の製造法、(3) ポリ- $\alpha$ -アミノ酸がポリ- $\alpha$ -アスパラギン酸又はポリ- $\alpha$ -グルタミン酸である、上記(1)又は(2)記載のブロック共重合体の製造法、(4) エステル構造の形でカルボキシル基が保護基で保護されている、上記(1)、(2)又は(3)記載のブロック共重合体の製造法、(5) 親水性高分子構造部分と、光学活性なポリ- $\alpha$ -アスパラギン酸構造部分とを有するブロック共重合体、(6) 式(1)で表される上記(5)記載のブロック共重合体、

【0005】

【化2】



(式中、 $R_1$  は低級アルキル基を表し、 $R_2$  は結合基を表し、 $n$  は5~1,000、 $m$  は1~300の整数を示す。)

(7)  $R_1$  がメチル基である上記(6)記載のブロック共重合体、(8)  $R_2$  が炭素数2~4のアルキレン基である上記(6)又は(7)記載のブロック共重合体、

(9) 上記(5)、(6)、(7)又は(8)のブロック共重合体のポリ- $\alpha$ -アスパラギン酸構造部分の側鎖に抗癌性物質を結合せしめた水溶性高分子抗癌剤、(10) 抗癌性物質がアドリアマイシンである上記(9)の水溶性高分子抗癌剤、(11) 抗癌性物質を結合せしめた光学活性なポリ- $\alpha$ -アスパラギン酸構造部分を内側に、親水性高分子構造部分を外側とするミセルを形成するものである

上記(9)又は(10)に記載の水溶性高分子抗癌剤、に関する。

【0006】本発明によれば、特開平2-300133号公報の実施例に記載された方法により得られるポリエチレングリコール-ポリアスパラギン酸ブロック共重合体に比べ、共重合体主鎖の $\beta$ -転位がなく、化学構造的に均一な $\alpha$ -構造を持つ共重合体得られ、これに抗癌性物質を結合させた水溶性高分子抗癌剤は、特開平2-300133号公報の実施例のものより抗癌活性が優れている。

【0007】以下、本発明について詳細に説明する。

【0008】親水性高分子構造部分の構造としては、例えばポリエチレングリコール、ポリサッカライド、ポリアクリルアミド、ポリメタクリルアミド、ポリアミノ酸、ポリアクリル酸、ポリメタクリル酸、ポリビニルアルコール、ポリビニルピロリドン、キトサン等の構造が挙げられるが、親水性高分子構造であれば特に限定されない。特に好ましい構造は、ポリエチレングリコール構造である。

【0009】ポリ- $\alpha$ -アミノ酸構造部分の構造としては特に限定されず、例えばポリ- $\alpha$ -アスパラギン酸、ポリ- $\alpha$ -グルタミン酸等の構造が挙げられる。

【0010】ポリ- $\alpha$ -アミノ酸構造部分のカルボキシル基の保護基としては特に限定されないが、通常、該カルボキシル基が保護基で保護されたことにより-COO $R_3$  ( $R_3$ :保護基)で示されるエステル構造をとるような保護基が挙げられ、この保護基 ( $R_3$ ) としては、例えば、メチル基、エチル基、第3ブチル基、フェニル基、トリクロロエチル基、ベンジル基、 $p$ -ニトロベンジル基や $p$ -メトキシベンジル基等の置換ベンジル

基、ジフェニルメチル基、ベンズヒドリル基、シクロヘキシル基等、種々のものが挙げられる。好ましくは第3ブチル基、ベンジル基、 $p$ -メトキシベンジル基等である。

【0011】保護基を有するブロック共重合体は、無溶媒で、又は例えばジオキサン等の通常の有機溶媒に溶解し、これに酸を加えて反応させることにより、保護基を除去する。

【0012】酸としては、トリフルオロメタンスルホン酸、メタンスルホン酸、トリフルオロ酢酸、酢酸、ギ酸、フッ化水素酸、臭化水素酸、塩化水素酸等の通常の酸性物質を用いることができる。酸は、保護基を有するブロック共重合体に対して、0.1~100重量倍用いるのが好ましく、特に0.5~10重量倍用いるのが好ましい。

【0013】また、副反応を防止するため、アニソール、チオアニソール、 $m$ -クレゾール、 $o$ -クレゾール等を、使用する酸に対し、好ましくは0.1~10モル%加えることもできる。

【0014】保護基を酸を用いて除去する際の反応温度は、好ましくは-20~50℃であり、特に好ましくは0~20℃である。また、反応は0.5~4時間行えば充分である。

【0015】このようにして保護基を除去して得られた、親水性高分子構造部分と光学活性なポリ- $\alpha$ -アミノ酸構造部分とを有するブロック共重合体において、親水性高分子構造部分と光学活性なポリ- $\alpha$ -アミノ酸構造部分の割合は、好ましくは1:0.1~10(重量比)、特に好ましくは1:0.2~5(重量比)である。また、ブロック共重合体の好ましい平均分子量は5,000~50,000であり、このブロック共重合体は薬物担持用担体として用いることができ、この薬物担持用担体に、抗癌性物質を反応させて結合することにより水溶性高分子抗癌剤が得られる。

【0016】なお、本発明の方法で原料として用いる保護基を有するブロック共重合体は、公知の方法により得ることができる。例えば、親水性高分子構造部分を構成することになる化合物(例えば、ポリエチレングリコール、ポリサッカライド、ポリアクリルアミド、ポリメタクリルアミド、ポリアミノ酸、ポリアクリル酸、ポリメタクリル酸、ポリビニルアルコール、ポリビニルピロリドン、キトサンあるいはこれらの誘導体)もしくはその末端を変性したものに、光学活性なポリ- $\alpha$ -アミノ酸のカルボキシル基が保護基で保護されているアミノ酸誘

導体を反応させるか、又は親水性高分子構造部分を構成することになる化合物もしくはその末端を変性したものと光学活性な $\alpha$ -アミノ酸の一方のカルボキシル基を保護基で保護したモノマーを反応させることにより得られる。

【0017】親水性高分子構造部分を構成することになる化合物の末端の変性は公知の方法によって行うことができ、例えば、水酸基をアミノ基に変換する方法としてエチレンイミン等を反応させる方法、アクリロニトリルやメタクリロニトリル等にマイケル付加後ニトリル基を還元しアミノ基に変換する方法、水酸基をハロゲン基に置換した後エタノールアミン等のアルコールアミンを反応する方法、水酸基を直接ニトリル基に変換後還元しアミノ基に変換する方法等で行うことができる。前記

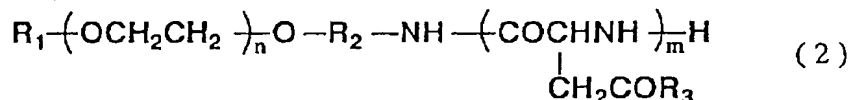
(5)～(8)に記載のブロック共重合体は、 $\alpha$ -アミノ酸としてアスパラギン酸を用い、前記の方法に従って反応を行うことにより得ることができる。前記式(1)において、 $R_1$ は、本発明の水溶性高分子抗癌剤の水溶性を損なわない限り(好ましくは、更に本発明の水溶性高分子抗癌剤のミセル形成能を損なわない限り)、特に限定されず、親水性高分子構造部分の末端にポリ- $\alpha$ -アスパラギン酸構造部分を形成させる際、親水性高分子構造部分を構成することになる化合物の末端を該形成に適した構造に変換させるために使用した方法及び化合物に対応した構造をとり、例えばエチレン基(-CH<sub>2</sub>C \* H<sub>2</sub>-)、プロピレン基(-CH(CH<sub>3</sub>)CH<sub>2</sub>-)、トリメチレン基(-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>-)、ブチレン基(-CH<sub>2</sub>CH(CH<sub>3</sub>)CH<sub>2</sub>-等)等の炭素数2～8、好ましくは炭素数2～4のアルキレン基等が挙げられるが特に限定されない。

【0018】前記(5)～(8)において、親水性高分子構造部分と光学活性なポリ- $\alpha$ -アスパラギン酸構造部分の割合は、好ましくは1:0.1～10(重量比)、より好ましくは1:0.2～5(重量比)であり、又、前記(5)～(8)のブロック共重合体の好ましい平均分子量は、5,000～50,000である。

【0019】前記(1)～(4)で得られるブロック共重合体又は、前記(4)～(8)のブロック共重合体の光学活性なポリ- $\alpha$ -アミノ酸構造部分の側鎖に抗癌性物質を結合させることにより水溶性高分子抗癌剤が得られる。光学活性なポリ- $\alpha$ -アミノ酸構造部分に結合させる抗癌性物質としては、アドリアマイシン、ダウノマイシン、ビンルビン、メトトレキサート、マイトマイシンC、エトポシド、シスプラチン等の抗癌性物質及びその誘導体が挙げられるがこれらに限定されるものではない。例えば、前記式(1)のブロック共重合体にアドリアマイシンを反応させて得られる水溶性高分子抗癌剤は、式(2)

【0020】

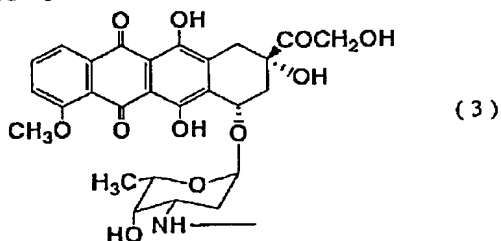
【化3】



(式中、 $R_1$ 、 $R_2$ 、 $n$ 、 $m$ は前記と同じ意味を有し、 $R_3$ はそれぞれ独立して水酸基又は式(3)

【0021】

【化4】



を示すが、 $R_3$ の少なくとも1つは式(3)を示す。)で表される構造を有する。

【0022】本発明の水溶性高分子抗癌剤は、水溶性である限りその分子量は特に限定されないが、好ましくは1,000～100,000、特に好ましくは5,000～50,000である。

【0023】本発明の水溶性高分子抗癌剤中の、親水性高分子構造部分と側鎖に抗癌性物質を結合せしめた光学活性なポリ- $\alpha$ -アミノ酸(例えばポリ- $\alpha$ -アスパラ

ギン酸)構造部分の割合は本発明の高分子抗癌剤の水溶性が保たれる限り特に限定されないが、好ましくは1:0.1～10(重量比)、特に好ましくは1:0.2～5(重量比)である。前記式(1)及び式(2)において、 $R_1$ はメチル基、エチル基、プロピル基、ブチル基等の低級アルキル基を表すが、好ましいものはメチル基である。また、 $n$ は5～1,000であるが、好ましくは15～250であり、 $m$ は1～300であるが、好ましくは10～100である。

【0024】本発明において、光学活性なポリ- $\alpha$ -アミノ酸構造の側鎖に結合させる抗癌性物質の量は特に限定されず、任意の結合量とすることが可能であるが、本発明の水溶性高分子抗癌剤中に含まれる上記側鎖に結合した抗癌性物質の量は、通常3～80重量%であり、好ましくは5～60重量%である。しかしながら、本発明の高分子抗癌剤の水溶性が損なわれない限り、可能な限り多く結合させることになら問題は無い。

【0025】本発明の水溶性高分子抗癌剤は種々の方法により製造することができる。例えば、ペプチド結合生成法として知られている公知の常法に準じて行うことができ、酸塩化物法、酸無水物法、カップリング法等が使

用できるが、縮合剤を使用するカップリング法が望ましい。ここで使用する縮合剤としては、1-エチル-3-(3-ジメチルアミノプロピル)カルボジイミド(EDC)、1-エチル-3-(3-ジメチルアミノプロピル)カルボジイミド塩酸塩(EDC・HCl)、ジシクロヘキシルカルボジイミド(DCC)、カルボニルジイミダゾール(CDI) 1-エトキシカルボニル-2-エトキシ-1, 2-ジヒドロキシキノリン(EEDQ)、ジフェニルホスホリルアジド(DPPA)等が使用できる。この際、N-ヒドロキシサクシニイミド(HONSu)、1-ヒドロキシベンゾトリアゾール(HOBT)、N-ヒドロキシ-5-ノルボルネン-2, 3-ジカルボン酸イミド(HONB)等を共存させてもよい。

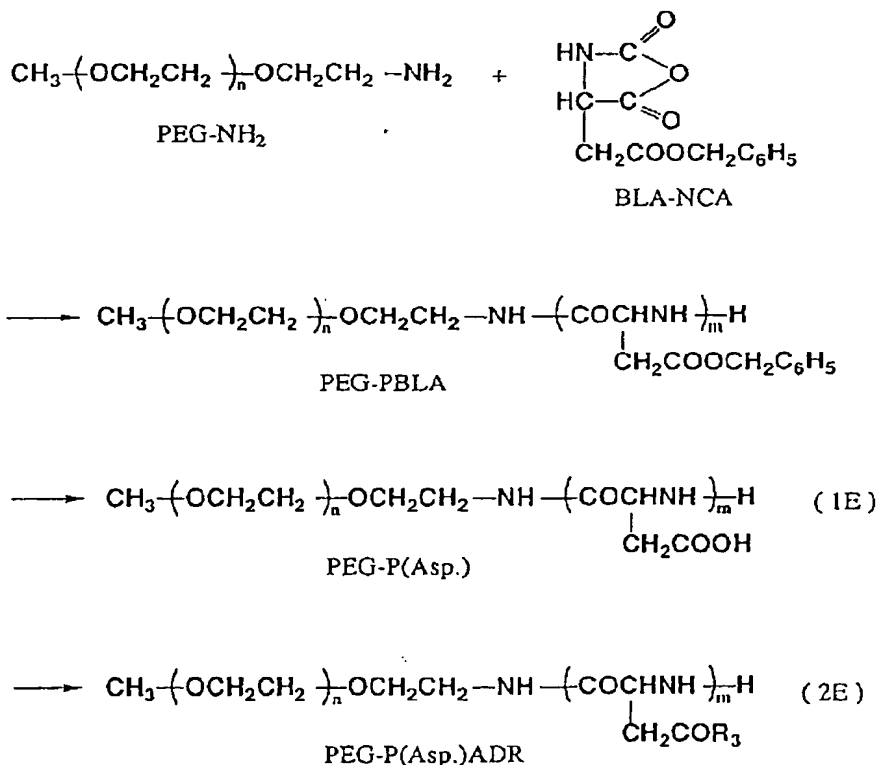
【0026】以下に、ポリエチレングリコール誘導体由来の親水性高分子構造部分と光学活性なポリ-α-アスパラギン酸構造部分とからなるブロック共重合体で、アドリアマイシンを光学活性なポリ-α-アスパラギン酸の側鎖に結合させた高分子抗癌剤の場合を例にとり、本発明をさらに詳細に説明する。

【0027】この水溶性高分子抗癌剤の合成は、以下の反応式に示すごとく行うことができる。即ち、β-ベンジル-L-アスパルテート-N-カルボン酸無水物(BLA-NCA)を、片末端にメトキシ基等のアルコキシ基を有し、他の片末端に1級アミノ基を有するメトキシ\*

\*ポリエチレングリコール(PEG-NH<sub>2</sub>) (好ましくは分子量250~20,000)を開始剤として、ジメチルホルムアミド、ジメチルスルホキシド、クロロホルム、ジクロロメタン、テトラヒドロフラン、アセトニトリル、ジオキサン等の溶媒中で開環重合させ、ポリエチレングリコール-ポリ(β-ベンジル-L-アスパルテート)ブロック共重合体(PEG-PBLA)を得、次いでこのPEG-PBLAのベンジルエステルをトリフルオロ酢酸等の溶媒中でトリフルオロメタンスルホン酸等の酸を用いて加水分解して本発明のブロック共重合体(薬物担持用担体)である光学活性ポリエチレングリコール-ポリ-α-アスパラギン酸ブロック共重合体(PEG-P(Asp.))を得る。ここで得られた共重合体は、アルカリ加水分解を行った場合にみられるポリアスパラギン酸主鎖のβ転位は全くみられず、転位の無いα体のポリアスパラギン酸共重合体であることがNMR分析で確認された。このPEG-P(Asp.)に抗癌性物質のアドリアマイシン塩酸塩と縮合剤を加え、アドリアマイシンの1級アミノ基とポリアスパラギン酸の側鎖カルボキシル基とをアミド結合で結合させて、水溶性高分子抗癌剤(PEG-P(Asp.)ADR)を得る。

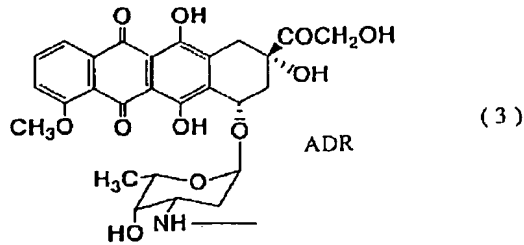
【0028】

【化5】



(式中、R<sub>3</sub>はそれぞれ独立して水酸基あるいは

【化6】



を表し、 $n$ は5~1,000、 $m$ は1~300の整数を示すが、 $R_1$ の少なくとも1つは、式(3)を表すものとする。)

本発明の水溶性高分子抗癌剤は高いアドリアマイシン置換率(ポリアスパラギン酸のカルボキシル基の数のうちのアドリアマイシンが結合したカルボキシル基の割合)にもかかわらず良好な水溶性を有しており、凍結乾燥したり濃縮してもその水溶性は保たれている。

【0030】本発明の水溶性高分子抗癌剤の抗癌活性は、表1に示すように元のアドリアマイシン塩酸塩自体よりも高いものである。しかもその高い抗癌活性はアドリアマイシンよりも少ない副作用の範囲で達成される。本発明の水溶性高分子抗癌剤は、一般的に使用される種々の剤型、例えば固形剤、軟膏、液剤等の形で使用しうるが、通常注射剤として使用され、その投与量は、1週間当たり1~3回投与で、総量100~1,000mg/m<sup>2</sup>/週程度である。

【0031】

【実施例】次に合成例、実施例、参考例により本発明を具体的に説明する。

【0032】合成例1

$\beta$ -ベンジル-L-アスパルテート-N-カルボン酸無水物(BLA-NCA)5.7gをN,N'-ジメチルホルムアミド(DMF)20mlに溶解した。片末端メトキシ基、片末端3-アミノプロピル基のポリエチレングリコール(PEG-NH<sub>2</sub>) (分子量5,100)をDMF40mlに溶解し、その溶液をBLA-NCA溶液に加えた。40時間後に反応混合物をイソプロピルエーテル2リットルに滴下して沈殿したポリマーを濾過で回収し、イソプロピルエーテルで洗浄した後に真空乾燥してポリエチレングリコール-ポリ( $\beta$ -ベンジル-L-アスパルテート)ブロック共重合体(PEG-PBLA)7.99g(収率92.1%)を得た。

【0033】合成例2

$\gamma$ -ベンジル-L-グルタマート-N-カルボン酸無水物(BLG-NCA)5.0gをN,N'-ジメチルホルムアミド(DMF)10ml、クロロホルム45mlに溶解した。片末端メトキシ基、片末端3-アミノプロピル基のポリエチレングリコール(分子量5,100)をクロロホルム45mlに溶解し、その溶液をBLG-NCA溶液に加えた。70時間後に反応混合物をイソプロピル

エーテル2リットルに滴下して沈殿したポリマーを濾過で回収し、イソプロピルエーテルで洗浄した後に真空乾燥してポリエチレングリコール-ポリ( $\gamma$ -ベンジル-L-グルタマート)ブロック共重合体(PEG-PBLG)8.97g(収率98.0%)を得た。

【0034】実施例1

合成例1で得られたPEG-PBLA5.0gをトリフルオロ酢酸75mlに溶解し、チオアニソール12.5ml、 $m$ -クレゾール11.5ml、トリフルオロメタンスルホン酸9.5mlを加え、氷冷下30分攪拌した。その後反応混合物をイソプロピルエーテル1リットルに滴下した。沈殿したポリマーを濾過で回収し、イソプロピルエーテルで洗浄した後に真空乾燥してポリエチレングリコール-ポリ-L-アスパラギン酸ブロック共重合体(PEG-P(Asp.))2.82gを得た。このブロック共重合体を重水中で<sup>1</sup>H-NMRで解析したところ、アルカリ加水分解を行った場合にみられる $\beta$ -転位は全く認められず、 $\alpha$ -体の共重合体であった。また水中での比旋光度 $[\alpha]$ は-16.4°と光学活性体であった。得られた薬物担持用担体であるPEG-P(Asp.)は前記式(1)の構造を有し、 $R_1$ はメチル基、 $R_2$ はトリメチレン基、 $n=115$ 、 $m=15$ である。

【0035】実施例2

合成例2で得られたPEG-PBLG5.0gをトリフルオロ酢酸25mlに溶解し、アニソール5ml、メタンスルホン酸25mlを加え、氷冷下60分攪拌した。その後反応混合物をイソプロピルエーテル1リットルに滴下した。沈殿したポリマーを濾過で回収し、イソプロピルエーテルで洗浄した後に真空乾燥してポリエチレングリコール-ポリ-L-グルタミン酸ブロック共重合体(PEG-P(Glu.))3.12gを得た。このブロック共重合体を重水中で<sup>1</sup>H-NMRで解析したところ $\alpha$ -体の共重合体であった。また0.2M NaCl水溶液中での比旋光度 $[\alpha]$ はポリグルタミン酸組成算出で-100°(文献値-102°)と光学活性体であった。得られた薬物担持用担体であるPEG-P(Glu.)は前記式(1)の構造(但し、アミノ酸の側鎖部分は-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>COOHである)を有し、 $R_1$ はメチル基、 $R_2$ はトリメチレン基、 $n=115$ 、 $m=20$ である。

【0036】実施例3

実施例1で得られたPEG-P(Asp.)157mgを水に溶解した。アドリアマイシン塩酸塩300mgをDMFに懸濁し、氷冷下トリエチルアミン72 $\mu$ lを加えた後PEG-P(Asp.)水溶液を加えた。この混合溶液に1-エチル-3-(3-ジメチルアミノプロピル)カルボジイミド(EDC)150 $\mu$ lを加え、氷冷下4時間反応させた。その後EDC150 $\mu$ lを追加し室温で18時間反応させた。反応混合物を透析膜(分画分子量=12,000)を用いて0.1M酢酸ナトリウム緩

衡液 (pH4.5) 中で3時間透析した。透析後、ADVANTEC UK-50 (分画分子量=50,000) の限外濾過膜で限外濾過して、未反応のアドリアマイシンやその他の低分子物質を除いた。水洗と濃縮を繰り返し、アドリアマイシン換算で20mg/ml (紫外分光光度計で485nmの吸収より算出) の水溶液10.4mlを得た。得られた水溶性高分子抗癌剤であるPEG-P (A s p.) ADRは前記式(2)の構造を有し、R<sub>1</sub>はメチル基、R<sub>2</sub>はトリメチレン基、n=115、m=15でRの一部は水酸基で残りは前記残基(3)である。アドリアマイシン結合量(含有率)は56.5重量%であるが良好な水溶性を示した。

#### 【0037】実施例4

実施例3で合成した水溶性高分子抗癌剤PEG-P (A s p.) ADRのミセル径を、レーザー光散乱法により測定した。PEG-P (A s p.) ADR (アドリアマイシンの結合量56.5重量%) の水中でのミセル径は、40nmであった。また、この試料を2分間超音波処\*

\*理した場合、元のピークはほとんど1nmと低分子側に移動することより、本水溶性高分子抗癌剤が水系溶媒中でミセルを形成することが判る。

#### 【0038】参考例1

CDF1メスのマウスの背側部皮下にマウス大腸癌Colon26細胞を移植し、腫瘍の体積が100mm<sup>3</sup>前後に達した時点から実施例3で得られたPEG-P (A s p.) ADR (ADR結合量56.5重量%のもの) 又はアドリアマイシン塩酸塩 (ADR) を4日間隔1回、計3回静脈内に投与し、進行癌に対する効果を検討した。各薬剤は生理食塩水で用時希釈して用いた。なお、PEG-P (A s p.) ADRはADRに換算した投与量を用いた。薬剤の抗腫瘍効果は、コントロールに対する各群のメディアン生存日数の比T/C (%)と腫瘍増殖曲線から判定した。結果を表1と図1に示す。

#### 【0039】

#### 【表1】

表1 マウス大腸癌Colon26に対する抗癌活性

サ ン プ ル	投与量 (mg/kg)	平均生存日数	T/C (%)
PEG-P (A s p.) ADR	25	59.8	176
PEG-P (A s p.) ADR	50	60.1	177
PEG-P (A s p.) ADR	100	60.1	177
PEG-P (A s p.) ADR	200	20.0	59
ADR	7.5	44.5	131
ADR	10	59.8	176

#### 60日までの結果

無処置群の平均生存日数は、34.0日

表1から明らかなように本発明の高分子抗癌剤は、アドリアマイシン塩酸塩に比べ有効投与量幅が大きく有用な薬剤であることが判る。また、図1及び図2から明かなように、アドリアマイシン塩酸塩を投与した場合、移植した腫瘍の増殖抑制効果は認められるが腫瘍の縮小はほとんど認められないのに対し、本発明の水溶性高分子抗癌剤を100mg/kg/day (1回当り) 投与した場合、30日後には5匹中4匹で移植した腫瘍が消失した。同様に50mg/kg/day で5匹中3匹、25mg/kg/day でも5匹中3匹腫瘍消失と幅広い投与量で有用な薬剤であることが判った。

#### 【0040】

30 【発明の効果】本発明の方法で得られるブロック共重合体を用いた水溶性高分子抗癌剤は、光学活性なα体の高分子を用い構造的に均一性が良く、抗癌剤の結合量を多くしても良好な水溶性を有している。しかもブロック共重合体に結合させていない抗癌剤に比較して低い毒性の範囲で高い抗腫瘍効果を示すことより、本発明により極めて有用な医薬を提供できるものである。

#### 【図面の簡単な説明】

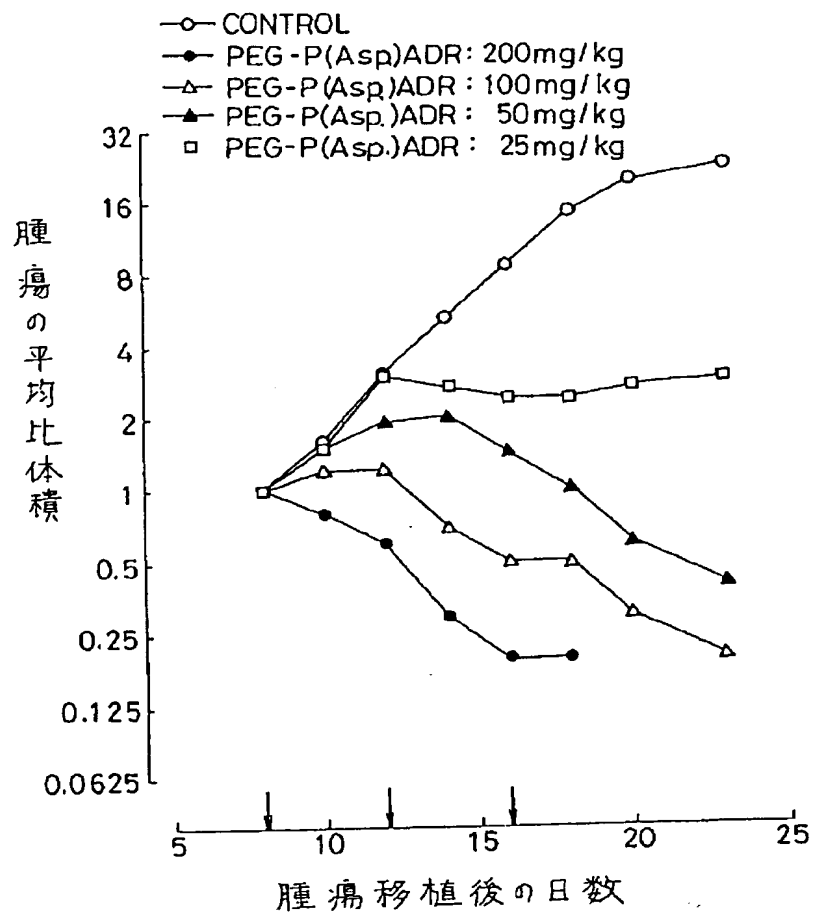
【図1】PEG-P (A s p.) ADRを投与した場合の、マウス大腸癌Colon26の腫瘍増殖曲線。

40 【図2】アドリアマイシン塩酸塩を投与した場合の、マウス大腸癌Colon26の腫瘍増殖曲線。

【図1】

## 図 1

PEG-P(Asp.)ADRを投与した場合

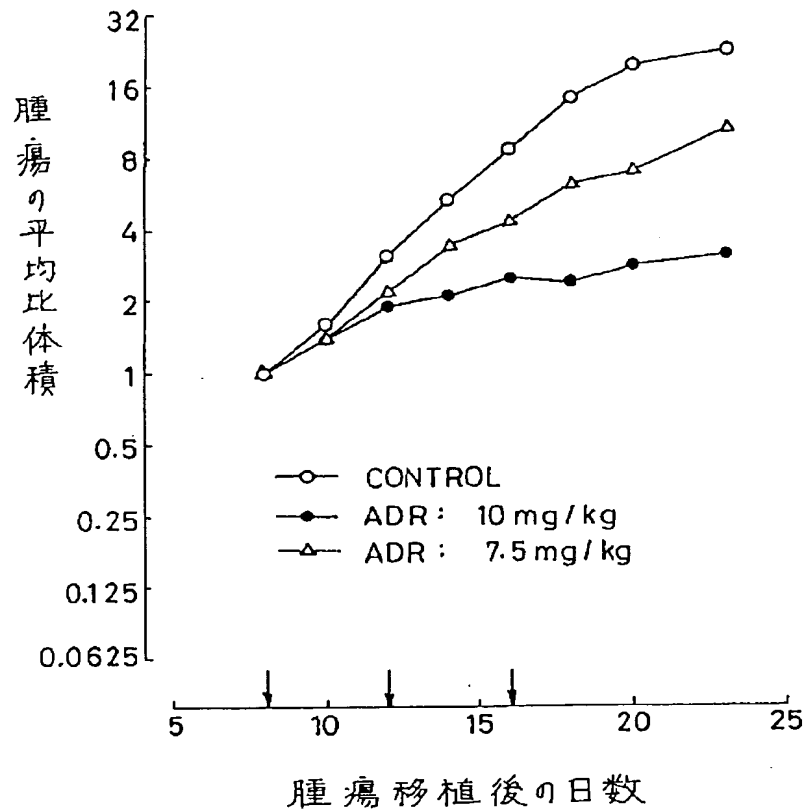




【図2】

## 図 2

アドリアマイシン塩酸塩投与の場合



フロントページの続き

(51)Int.Cl. <sup>3</sup> C 0 8 G 69/10	識別記号 NRN	弁内整理番号 9286-4J	F I	技術表示箇所
(72)発明者 片岡 一則 千葉県柏市大室1083-4、柏ビレジ141-9			(72)発明者 ▲勢▼藤 隆 群馬県前橋市下川町45-3	
(72)発明者 岡野 光夫 千葉県市川市国府台6-12-12			(72)発明者 福島 重人 群馬県高崎市岩鼻町239	
			(72)発明者 浴本 久雄 東京都北区志茂2-11-1-803	

(72)発明者 岡本 一也  
東京都荒川区東尾久5-7-10-305

【公報種別】特許法第17条の2の規定による補正の掲載  
 【部門区分】第3部門第3区分  
 【発行日】平成11年(1999)9月14日

【公開番号】特開平5-117385  
 【公開日】平成5年(1993)5月14日  
 【年通号数】公開特許公報5-1174  
 【出願番号】特願平3-313807

【国際特許分類第6版】

C08G 65/32 NQJ  
 A61K 31/71 ADU  
 31/785  
 47/48

C07C 237/22  
 C08G 69/10 NRN

【F I】

C08G 65/32 NQJ  
 A61K 31/71 ADU  
 31/785  
 47/48 A  
 C07C 237/22  
 C08G 69/10 NRN

【手続補正書】

【提出日】平成10年9月7日

【手続補正1】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0019

【補正方法】変更

【補正内容】

【0019】前記(1)～(4)で得られるブロック共重合体又は、前記(5)～(8)のブロック共重合体の光学活性なポリ- $\alpha$ -アミノ酸構造部分の側鎖に抗癌性物質を結合させることにより水溶性高分子抗癌剤が得られる。光学活性なポリ- $\alpha$ -アミノ酸構造部分に結合させる抗癌性物質としては、アドリアマイシン、ダウノマイシン、ビンルビン、メトトレキセート、マイトマイシンC、エトポシド、シスプラチン等の抗癌性物質及びその誘導体が挙げられるがこれらに限定されるものではない。例えば、前記式(1)のブロック共重合体にアドリアマイシンを反応させて得られる水溶性高分子抗癌剤は、式(2)

【手続補正2】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0025

【補正方法】変更

【補正内容】

【0025】本発明の水溶性高分子抗癌剤は種々の方法により製造することができる。例えば、ペプチド結合生成法として知られている公知の常法に準じて行うことができ、酸塩化物法、酸無水物法、カップリング法等が使用できるが、縮合剤を使用するカップリング法が望ましい。ここで使用する縮合剤としては、1-エチル-3-(3-ジメチルアミノプロピル)カルボジイミド(EDC)、1-エチル-3-(3-ジメチルアミノプロピル)カルボジイミド塩酸塩(EDC・HCl)、ジシクロヘキシルカルボジイミド(DCC)、カルボニルジイミダゾール(CDエ)、1-エトキシカルボニル-2-エトキシー-1,2-ジヒドロキシキノリン(EEDQ)、ジフェニルホスホリルアジド(DPPA)等が使用できる。この際、N-ヒドロキシサクシニイミド(HONSu)、1-ヒドロキシベンゾトリアゾール(HOBT)、N-ヒドロキシ-5-ノルボルネン-2,3-ジカルボン酸イミド(HONB)等を共存させてもよい。

**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning  
Operations and is not part of the Official Record**

**BEST AVAILABLE IMAGES**

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

- ☐ **BLACK BORDERS**
- ☐ **IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES**
- ☐ **FADED TEXT OR DRAWING**
- ☐ **BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING**
- ☐ **SKEWED/SLANTED IMAGES**
- ☐ **COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS**
- ☐ **GRAY SCALE DOCUMENTS**
- ☐ **LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT**
- ☐ **REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY**
- ☐ **OTHER:** \_\_\_\_\_

**IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.**

**As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.**